

## О ВОЗМОЖНОСТЯХ СПЕКТРОСКОПИИ ТВЕРДОГО ТЕЛА СВЕРХВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ В ЗАДАЧЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ НУКЛЕОТИДОВ В ДНК

© *К.К.Ребане*

Институт физики Академии наук Эстонии,  
ЕЕ-2400 Тарту, Эстония  
(Поступила в Редакцию 14 июня 1996 г.)

1. В [1] обращено внимание на потенциальные возможности спектроскопии бесфоновных линий (БФЛ) в решении проблемы определения последовательности нуклеотидов в молекуле ДНК — одной из актуальных задач молекулярной биологии и центральной проблемы колоссального международного проекта «Геном человека». Последовательность в ДНК считается устойчивой и широком интервале температур, включая гелиевые. Здесь речь идет об одной из редких задач биологии, где можно применять разработанные для низкотемпературных твердых тел высокоинформативные методы.

В [1] приведены оценки, показывающие, что при использовании для маркирования нуклеотидов подходящих молекул, вносящих в спектры ДНК узкие и интенсивные БФЛ (при 2 К однородная ширина составляет  $0.0001 \text{ cm}^{-1}$  пиковое значение сечения поглощения равно  $10^{-11} \text{ cm}^2$ ), можно по частоте БФЛ в принципе дифференцировать состав участков ДНК, содержащих десятки нуклеотидов, и определить их последовательность. Непосредственное определение места в последовательности затрудняется тем, что размер нуклеотида на несколько порядков величины меньше длины волны возбуждающего света.

В настоящей работе в развитие [1] предложены два возможных подхода использования методов физики твердого тела.

2. Хорошо известно, что дифракционный предел точности фокусирования света  $\lambda^2$  кладет предел размеру пятна освещенности, но не ограничивает точность определения центра пятна. Это обстоятельство учтено в предложении уплотнения записи в оптической памяти, основанной на явлении устойчивого выжигания спектральных провалов [2,3].

Существенным достижением, открывшим новые перспективы и в изучении больших молекул, таких как ДНК, является спектроскопия одной примесной молекулы.

Пусть каждый из четырех сортов нуклеотидов снабжен своим специфическим маркером, вносящим в спектр флуоресценции узкую и интенсивную БФЛ. Молекула ДНК растянута в линию, включена в подводящую матрицу и охлаждена до 2 К.

Два фактора способствуют решению задачи пространственного разрешения: 1) пятно возбуждения флуоресценции можно перемещать вдоль оси ДНК с точностью малой доли  $\lambda$  и детектировать в зависимости от координаты центра пятна интенсивность флуоресценции; изменение последней говорит о появлении и уходе маркера с данной БФЛ в пятне освещения; 2) из-за высокой чувствительности БФЛ их частоты заметно различны и для маркеров одного сорта в зависимости от их ближайшего окружения. Высокое спектральное разрешение позволяет детектировать, например, лишь один из сотни нуклеотидов одного сорта, остальные оказываются вне резонанса с возбуждением.

Расстояния между источниками сигнала будут в среднем превышать длину волны возбуждающего света. Осложнения, связанные с поляризационными зависимостями, можно обойти варьированием угла между лучом возбуждения и осью ДНК, применением неполяризованного света и т. д.

3. Из сказанного выше ясно, что преимущества спектроскопии сверхвысокого разрешения, основанной на БФЛ, проявятся в полной мере, если подлежащие идентификации нуклеотиды распределены в пространстве таким образом, что расстояния между ними значительно больше длины световой волны возбуждения флуоресценции. Для получения такого размещения можно применить схему последовательного отсечения нуклеотидов с конца молекулы ДНК и внедрения их в уносящую тонкую струю жидкости носителя. В настоящее время идентификация производится в момент пролета нуклеотида через лазерный детектор, выполняющий анализ спектра флуоресценции с невысоким спектральным разрешением [4].

Детектирование и идентификацию можно существенно улучшить, если струю направить на движущийся с подходящей скоростью экран, захватывающий и фиксирующий нуклеотиды. Пусть струя приносит 1000 нуклеотидов в секунду. Если желательно расположить их на расстояниях в среднем  $10 \dots 0.0001$  см от соседа, скорость передвижения экрана должна быть не менее 1 см/с. Экран с нанесенной картой последовательности нуклеотидов помещается в жидкий гелий, и идентификация нуклеотидов и небольших фрагментов ДНК с помощью спектроскопии БФЛ сверхвысокого разрешения становится возможной. Точности в принципе достаточно для различения  $n$ -членных участков ДНК при  $n$  порядка десяти и более. Следовательно, расчленение на участки может быть более грубым, не обязательно с точностью до отдельного нуклеотида. Можно отсекают и уверенно определять состав и последовательность нуклеотидов в 5–10-членных участках ДНК.

Решающим звеном является нахождение маркеров, вносящих БФЛ в спектры ДНК.

Отметим, что прообразом экрана может служить система лазерной аудиопластины. Объем информации записанной на компакт-диске музыки и последовательности нуклеотидов в ДНК, если считать, что каждый из них носит один бит информации, примерно одинаков:  $10^9 - 10^{11}$  битов. Любопытна возможность воспринимать генетическую информацию на слух, как запись музыки.

### Список литературы

- [1] К. Rebane. *Experim. Technique of Physics*. In press (1996).
- [2] К.К. Ребане. А.с. от 22.02.92. № 1742859.
- [3] Я.В. Кинас, И.К. Ребане, В.Г. Федосеев. *ЖТФ* **63**, 1, 101 (1993).
- [4] P.M. Goodwin, R.Z. Affleck, W.P. Ambrose, J.N. Demas, J.C. Martin, Z.J. Reha-Krantz, D.J. Semin, J.A. Schucker, M. Wu, R.A. Keller. *Experim. Technique of Physics*. In press (1996).